

The modern methods development for microbiological water quality assessment in lakes



Zolotarev V.A.*, Kuznetsova E.V., Fedorov R.A.

I.D. Papanin Institute for biology of inland waters RAS, Borok, Yaroslavl obl., 152742, Russia

ABSTRACT. The functional diversity of free-living aquatic protozoans is discussed with respect to the feeding ecology, life strategies and water quality. Heterotrophic nanoflagellates (HNF) are known as most important grazers of bacteria in many aquatic ecosystems. Recent studies of flagellate feeding processes indicated that there are significant species-specific variability regarding the food uptake and food selection of bacterivorous flagellates. The Choanoflagellida have an essential role in microbial food webs contributing to a process of self-purification of water bodies as well as are used in monitoring systems. We show that diversity and relative abundance of ciliates and other protozoans can be used as indicators of toxic pollution and acidification. Multivariate statistics were used to design “the scale of toxicity” across a gradient of toxicant stress and organic compounds. A new index of periphyton flagellates (IPF) as indicator of the trophic status of a water-body and a simplified index for a sublethal toxicity assessment were developed.

Keywords: functional morphology, aquatic protists, heterotrophic nanoflagellates, ciliates, naked amoebae, index of periphyton flagellates, protozoan index of sublethal toxicity

For citation: Zolotarev V.A., Kuznetsova E.V., Fedorov R.A. The modern methods development for microbiological water quality assessment in lakes // Limnology and Freshwater Biology. 2024. - № 4. - P. 1180-1187. DOI: 10.31951/2658-3518-2024-A-4-1180

1. Introduction

At the beginning of the 21st century, the world is facing a global water quality crisis. The lack of wastewater management has a direct impact on the biological diversity of aquatic ecosystems, disrupting the fundamental integrity of our life support systems (Corcoran et al., 2010). The earliest detection of hazardous events in water supplies, and pollution prevention are the most cost-effective. Many biological early warning systems have been developed in recent years that evaluate the physiological and behavioral responses of whole organisms to water quality, cell-or tissue-based biosensors may be quite a bit less expensive (van der Schalie et al., 2001).

But the absolute cost is less important than the cost-benefit aspects. Physiological and behavioral responses of whole organisms usually most robust for acute toxicity, the more important for detecting hazardous events in aquatic ecosystems is long-term monitoring of sublethal, chronic toxicity.

The more favorable cost-benefit aspects could provide microbial communities due to the role of microbes as the basis of food webs and the primary agents for global biogeochemical cycles. These communities are forming a major part of microbial “loop”, transforming up to 90% of primary production (Finlay, 2002).

2. Materials and methods

Studies of microperiphyton communities were conducted in lakes of Karelia, the Rybinsk reservoir, Lake Baikal, Ladoga, acidic lakes of Darwin National Park, in temporal natural wetlands and in experimental microcosms. The basic problem in analysing aquatic ecosystems is their complexity. The difficulty of locating, quantifying and replicating habitat types at various stations along an environmental or pollution gradient has led many investigators to use artificial substrate samplers (Cairns, 1982). By far, the most commonly used artificial substrate has been glass slides (76 x 26

*Corresponding author.

E-mail address: forest753@gmail.com (V.A. Zolotarev)

Received: May 31, 2024; **Accepted:** June 28, 2024;

Available online: August 30, 2024

© Author(s) 2024. This work is distributed under the Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International License.



mm), which have the advantage that they can be collected under water by placing them in a jar of water, then transported to the laboratory and placed on the stage of the microscope for direct observation. Glass slides were used to detect the more fragile attached protozoans in vital microperiphyton communities. These substrates were suspended in the water in a vertical position by means of plastic holders, nylon rope, floats and anchors. Samples were collected by placing exposed slides into jars under the water surface. Two or four replicate substrates were generally harvested from each site on a given day; samples were transported to the laboratory as soon as possible. Samples that could not be analysed immediately were stored at the ambient temperature of the sampling location. All initial identifications and measurements of protozoans were made on living samples usually in 3–5 h after collection. Usually, direct counting was done under the light microscope with 300x magnification, using phase contrast.

3. Results and discussion

3.1. Holistic approach and integrity of aquatic ecosystems: some basic considerations

Scientists often use models to reduce the complexity of intractable problems and to increase their understanding of the natural world. According to M. Kamshilov (Kamshilov, 1979), every ecosystem is a kind of a biosphere model in small size, having appropriate integrity and reflecting the biotic circulation of the Earth. Any ecosystem is arranged fractally, the essentials of phenomena at one scale are repeated at all smaller or larger scales (Mandelbrot, 1982). Biodiversity of the whole aquatic ecosystem depends on the biodiversity of the microbial communities (Algae, Protozoa, Bacteria) at the basis of the trophic pyramid. The term ‘indicator species’ is usual in literature on bioindication of water quality, but we more tend to accept the term ‘indicator communities’, or ‘model communities’, that could be robust both for biological monitoring and ecotoxicology (Zolotarev, 2007).

Protists can be served as model organisms: from the ground-breaking work of Gause in the 1930s to modern studies, protists have acted as models to assess fundamental ecological issues. Periphyton communities that are formed on artificial substrates can be defined as “periphyton model communities” (PMC). There are all the main elements of the biotic circulation in the PMC: phototrophs producing organic matter, heterotrophs, decomposers, and the substrate with adsorbed chemicals. The chief functional role of substrate-associated protozoans appears to be the processing of dead organic matter and its associated bacterial flora. Metapopulations of microbial organisms smaller than 1 mm occur worldwide wherever their required habitats are realised. This is a consequence of ubiquitous dispersal driven by huge population sizes, and the consequently low probability of local extinction (Finlay, 2002).

3.2. Advantages of microorganisms in biomonitoring

Microorganisms should be used in biomonitoring for several compelling reasons. (1) A cosmopolitan distribution facilitates comparisons of test results in geographically different regions. (2) Problems of scale are diminished. (3) Replicability is as good as, or better than, tests with larger organisms. (4) Environmental realism is higher than in tests using larger organisms. (5) The number of test species is dramatically increased when using microorganisms, thus displaying natural variability much better than tests with a limited array of larger organisms. (6) Testing with microorganisms is less likely to antagonize animal rights activists. (7) Validation of laboratory tests in field enclosures is facilitated and much less costly (Cairns, 2005).

3.3. Feeding strategies of hydrobionts and water quality

New methods based on periphyton communities using polyurethane foam units (PFU) as artificial substrates, was included into the monitoring system of China and Korea, (Jiang et al., 2007). We have found more than 120 species of heterotrophic nanoflagellates and more than 90 species of ciliates and sarcodines inhabiting the PMC (glass slides) in different water-bodies (Zolotarev, 2007). The chief functional role of substrate-associated protozoans appears to be the processing of dead organic matter and its associated bacterial flora.

Choanoflagellates (collared flagellates) are the typical periphytic protozoans characterized by an ovoid or spherical cell body 3-10 µm in diameter with a single apical flagellum surrounded by a collar. Movement of the flagellum creates water currents that can trap bacteria and detritus against the collar providing filter-feeding. Choanoflagellates have a huge impact on the food chain, aiding the flow of carbon from primary producers to higher trophic levels (including ourselves!). They comprise 5-40% of heterotrophic nanoflagellates and may filter between 10% and 25% of coastal surface water each day (King, 2005). The feeding strategies of the protozoa were used to assign species to functional, trophic groups.

The most widely distributed species at the initial stages of colonisation of glass slides (pioneer species) in different lakes and other water-bodies were the colonial choanoflagellates (*C. botrytis*), dominant in mesosaprobic waters.

So, *C. botrytis* can be served as a model organism. In mesosaprobic waters the species diversity of microperiphyton and the abundance of the colonial choanoflagellates are maximal (from 1000 cells per sq. cm to 50,000 cells per sq. cm), in oligosaprobic and polysaprobic waters the species diversity and abundance of choanoflagellates decreased.

Vagile bodonids feeding by active hunting, dominant in polysaprobic waters. In polysaprobic waters the abundance of the bodonids and other vagile flagellates rapidly increased (from 1000 cells per sq. cm to 10,000

cells per sq. cm), in oligosaprobic environments is minimal. A new simplified index of periphyton flagellates (IPF) as an indicator of the trophic status of a water-body was developed:

$$IPF = Sa/Sv \quad (1)$$

where Sa – the number of attached nanoflagellate species, Sv - the number of vagile species.

The index takes the greatest value in oligosaprobic waters (1.0–3.0), in mesosaprobic waters (0.3–1.0), and lowest in polysaprobic waters (0–0.3). A close correlation (r) between IPF and dissolved organic matter and water colour was detected (r ranged from -0.823 to -0.744). The value of Sf (the number of all flagellates species) highly correlated with primary productivity and pH on the other side (r ranged from -0.929 to -0.758).

3.4. Multispecies toxicity testing: Index of sublethal toxicity

Difficulties in making accurate, ecosystem-level predictions of environmental effects of chemicals, mixtures and effluents based solely on the results of sampling single species have necessitated the development of more environmentally realistic methods (Cairns, 2002; 2005). But usually such complicated monitoring programs are very expensive. Model communities, smaller in size and less complicated, could be employed as the possible alternative.

The development of multispecies toxicity tests has provided a good basis for making the first step in developing comprehensive validation procedures. The end points utilized in many of these laboratory multispecies toxicity tests (such as colonization, respiration, detritus processing and the like) also occur in natural systems and involve higher levels of biological organization than single species.

Periphyton biodiversity and relative abundance of ciliates and other protozoans can be used also as indicators of toxic pollution and acidification. Naturally derived periphyton communities were collected from the natural water-body and transported to the laboratory for use in designed experiments. Also new simplified index for a sublethal toxicity assessment (IST) was developed:

$$IST = Ns/Na \quad (2)$$

where Ns is the abundance of Sessilida (attached ciliates), Na is the abundance of Amoebozoa, it takes the minimal value in polluted waters (1.0 - 0). Multivariate statistics were used to design the model of microbial communities development across a gradient of toxicant stress and organic compounds (Fig., Zolotarev, 1988; 2007).

4. Conclusion

“Ecosystem health” is the well-known term in ecology (Costanza, 2012, Kruse, 2019). New information technologies could be employed for international project using robotics for microscale methods development.

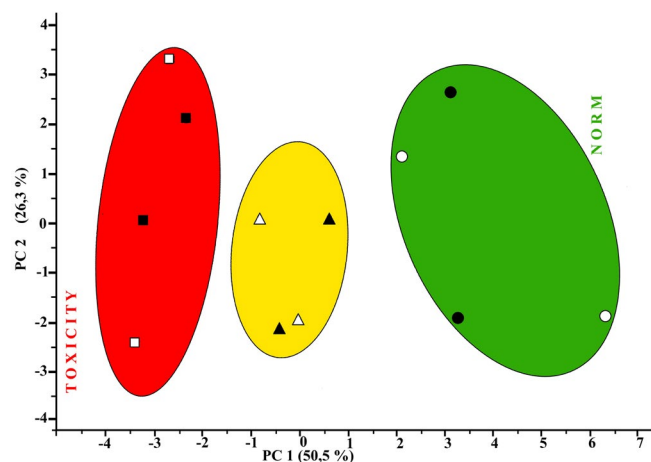


Fig. Principal components (1, 2) based on protozoan model community detecting a sublethal toxicity.

Entering the information age requires integrative methodology that employs a holistic view of the multiple stresses and interactions in complex aquatic ecosystems. Microscale testing methods and the earliest pollution prevention are the most cost-effective. So, microperiphyton communities can be very useful indicators of the water quality. Their ability to rapidly colonise artificial substrates, the cosmopolitan distribution and other advantages, provide an assessment capability not generally available for higher organisms. Biodiversity and relative abundance of protozoans at PMC can be used as indicators of toxic pollution, trophic status and nanoparticles. For the foreseeable future, with the development of online eco-sensors and “ecorobots”, a major application of microscale methods will be to predict, developing the new integrated standards, as a “Dow Jones” for water quality. As implications of the work, we developed some new methods (two patents (Zolotarev, 1986; 1991) and project of the Automated Biomonitoring International Network (<http://biomonitoring.narod.ru>). Future on-line aquatic monitoring systems will undoubtedly continue a trend towards miniaturization, utilization of advanced data acquisition and communication techniques (van der Schalie et al., 2001). It can be concluded that the use of modern digital technologies in the near future may find the widest application in various areas of ecological research and biological monitoring.

Acknowledgements

Authors greatly appreciate the advice of Dr. Alexander Mylnikov, Institute for Biology of Inland Waters Russian Academy of Sciences, and Dr. Alexander Railkin, St. Petersburg State University.

Conflict of interest

The authors declare no conflicts of interest.

References

- Artificial Substrates. 1982. In: Cairns J. (Ed.). Michigan: Ann Arbor Science Publishers.
- Cairns J. 2002. Ecotoxicology and sustainable use of the planet. *Toxicology and Industrial Health* 4: 161–170.
- Cairns J. 2005. Biomonitoring: the crucial link between natural systems and society. *Mankind Quarterly* 3: 289–308.
- Costanza R. 2012. Ecosystem health and ecological engineering. *Ecological Engineering* 45: 24–29.
- Finlay B. 2002. Global dispersal of free-living microbial eukaryote species. *Science* 296: 1061–1063.
- Jiang J., Wu S., Shen Y. 2007. Effects of seasonal succession and water pollution on the protozoan community structure in an eutrophic lake. *Chemosphere* 66(3): 523-532.
- Kamshilov M.M. 1979. Evolution of Biosphere. Moscow: Nauka. (in Russian)
- King N. 2005. Choanoflagellates. *Current Biology* 15(4): 113–114.
- Kruse M. 2019. Ecosystem health indicators? In B. Fath (Ed.). *Encyclopedia of Ecology*. Elsevier: 407–414.
- Mandelbrot B.B. 1982. The Fractal geometry of nature. San Francisco: Freeman W.H.
- Sick Water? The central role of wastewater management in sustainable development. A rapid response assessment. 2010. In: Corcoran E., Nellemann C., Baker E. et al. (Eds) UN-HABITAT, GRID. URL: www.grida.no
- Van der Schalie W.H., Shedd T.R., Knechtges P.L. et al. 2001. Using higher organisms in biological early warning systems for real-time toxicity detection. *Biosensors Bioelectronics* 16: 457–465.
- Zolotarev V.A. 1986. Method for water quality assessment. SU Patent 1237137. (in Russian)
- Zolotarev V.A. 1988. Periphyton heterotrophic flagellates of inland water-bodies. D. Phil. Thesis. Moscow University. (in Russian)
- Zolotarev V.A. 1991. Method for water toxicity testing. SU Patent 1489371. (in Russian)
- Zolotarev V.A. 2007. Water quality monitoring in wetland ecosystems using microbial model communities. *International Journal of Water* 3(3): 231–242.

Разработка современных микробиологических методов оценки качества вод в озерах

Краткое сообщение

LIMNOLOGY
FRESHWATER
BIOLOGY

Золотарев В.А.* , Кузнецова Е.В., Федоров Р.А.

Институт биологии внутренних вод им. И.Д. Папанина РАН, 152742 п. Борок, Ярославская обл., Некоузский р-н, Россия

АННОТАЦИЯ. Обсуждается функциональное разнообразие свободноживущих водных простейших по отношению к экологии питания, жизненным стратегиям и качеству воды. Гетеротрофные нанофлагелляты известны как наиболее эффективные потребители бактерий во многих водных экосистемах. Недавние исследования питания жгутиконосцев показали, что существуют значительные видоспецифичные различия выбора пищи бактериотрофных форм. Хоанофлагелляты играют важную роль в микробных пищевых сетях, способствуя процессу самоочищения водоемов, их также используют в системах мониторинга. Нами показано, что разнообразие и относительное обилие инфузорий и других простейших могут быть применены в качестве показателей токсичности и закисления водоемов. Методы многомерной статистики использованы для разработки модели развития сообществ простейших («шкалы токсичности») в градиенте токсического стресса. Разработаны новые показатели трофического статуса водоемов (индекс перифитонных флагеллят) и упрощенный индекс сублетальной токсичности.

Ключевые слова: функциональная морфология, водные протисты, гетеротрофные нанофлагелляты, инфузории, голые амебы, индекс перифитонных флагеллят, протозойный индекс сублетальной токсичности

Для цитирования: Золотарев В.А., Кузнецова Е.В., Федоров Р.А. Разработка современных микробиологических методов оценки качества вод в озерах // Limnology and Freshwater Biology. 2024. - № 4. - С. 1180-1187. DOI: 10.31951/2658-3518-2024-A-4-1180

1. Введение

Среди глобальных проблем начала 21 века особое место занимает ухудшение качества воды, связанное с быстрой урбанизацией и ростом производства и потребления (Corcoran et al., 2010). Наиболее экономически эффективна ранняя диагностика опасных воздействий на экосистемы. В современных системах оценки качества воды городских водопроводных станций используются обычно физиологические и поведенческие реакции организмов на стрессовые воздействия, биосенсоры на основе биологических тканей или клеток могут стоить намного дешевле (van der Schalie et al., 2001). Однако, соотношение цена – эффективность может быть более существенно, чем абсолютная стоимость установки. Физиологические и поведенческие реакции отдельных организмов обычно используют для оценки острой токсичности, но оценка менее токсичных, сублетальных и хронических воздействий отражает экологические риски для экосистемы в

целом. Более рентабельны методы мониторинга с использованием сообществ микробальной трофической сети, поскольку они, трансформируя до 90% первичной продукции, являются неотъемлемой ступенью в потоке энергии водных экосистем и глобальных биогеохимических циклов (Finlay, 2002).

2. Материалы и методы

Сбор материала производили на Рыбинском водохранилище и озерах Верхней Волги, а также на озерах Карелии, на Байкале и экспериментальных микрокосмах. Основные проблемы при исследовании водных экосистем - это их сложность и трудности выбора репрезентативных станций отбора проб. Многие исследователи решают подобные проблемы путем использования искусственных субстратов (Cairns, 1982). Мы использовали в качестве субстрата стеклянные пластины стандартного размера (76 x 26 мм), обычно некоррозионные предметные стекла для микроскопов. Выбор субстрата обуслов-

*Автор для переписки.

Адрес e-mail: forest753@gmail.com (В.А. Золотарев)

Поступила: 31 мая 2024; Принята: 28 июня 2024;

Опубликована online: 30 августа 2024

© Автор(ы) 2024. Эта работа распространяется под международной лицензией Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0.



лен необходимостью прижизненных наблюдений за мелкими (обычно до 10 мм) организмами, легко повреждаемыми при каком-либо концентрировании проб. Пластмассовые штативы с закрепленными в них стеклянными пластинами для изучения перифитонных сообществ погружают на заданные глубины на шнурах, связанных с поплавком и якорем. Пластины обрастания вынимают из кассет и помещают в баночки (100-250 мл) под поверхностью воды, затем доставляют в лабораторию. Количественный учет жгутиконосцев производят под микроскопом с фазовоконтрастным устройством, при увеличении 300х.

3. Результаты и обсуждение

3.1. Холистический подход и целостность водных экосистем

Модели часто используются в науке для упрощения сложных проблем и лучшего понимания процессов, протекающих в природе. Любая экосистема может быть представлена в виде модели биосферы в уменьшенном масштабе, отражающий биотический круговорот Земли с определенной долей целостности (Камшилов, 1979). Фрактальность экосистем проявляется в моделях с изменением реального масштаба, отражая основные функции, они демонстрируют самоподобие при изменении численности сообщества (Mandelbrot, 1982).

Всемирно известные работы нашего соотечественника Гаузе (30х годов) положили начала использованию простейших в качестве модельных организмов для исследования фундаментальных экологических законов. Основание пищевых сетей водоемов составляют микробиальные сообщества (водоросли, простейшие, бактерии), определяя биоразнообразие экосистемы в целом. Биологический мониторинг водоемов основан главным образом на концепции индикаторных видов, более интегральную картину качества воды могут давать методы, основанные на «индикаторных сообществах», или «модельных сообществах» (Zolotarev, 2007).

Специфические группы гидробионтов, формирующиеся на искусственных субстратах, мы назвали модельными сообществами перифитона (МСП), здесь присутствуют основные элементы биотических циклов: фототрофы, гетеротрофы, утилизаторы органики, а также субстрат с адсорбированными веществами. Основная функциональная роль субстрат-ассоциированных простейших заключается в переработке растворенных органических веществ и детрита, а также сопутствующих бактерий.

3.2. Преимущества использования микроорганизмов в биомониторинге

Микроорганизмы размером менее 1 мм являются космополитами, т.е. обитают везде, где существуют подходящие условия для их обитания. Их называют также убиквидами (буквально: «повсе-

местно распространенными»), поскольку их популяции обладают огромными размерами, и, следовательно, низкой вероятностью полного исчезновения в данной экосистеме (Finlay, 2002).

Есть несколько веских причин для использования микроорганизмов в биомониторинге: 1) космополитное распространение облегчает сравнение результатов тестирования в разных географических регионах; 2) проблемы масштаба уменьшаются – как в пространственном, так и временном (смена поколений) аспектах; 3) число повторностей и достоверность тестов легко увеличить; 4) экологический реализм выше, чем в тестах с использованием более крупных организмов; 5) количество тестируемых видов резко возрастает при использовании микроорганизмов, отражая тем самым естественную изменчивость гораздо лучше, чем тесты с ограниченной выборкой более крупных организмов; 6) работы с микроорганизмами не вызывают протеста у борцов за права животных; 7) валидация лабораторных тестов в полевых микро- и мезокосмах легко выполнима и гораздо дешевле (Cairns, 2005).

3.3. Пищевые стратегии гидробионтов и качество воды

В настоящее время методы с использованием сообществ микроперифитона на искусственных субстратах успешно работают в государственной системе мониторинга водных ресурсов Китая, а также используются в США, Корее и других странах (Jiang et al., 2007).

В перифитоне пресноводных экосистем на искусственных субстратах (стекла обрастания) нами выявлено более 120 видов и форм гетеротрофных нанофлагеллят, более 70 видов инфузорий и около 27 видов и форм саркодовых (Zolotarev, 2007). Основная функциональная роль простейших перифитона состоит в переработке детрита и сопутствующих бактерий. Хоанофлагелляты (воротничковые жгутиконосцы) - типичные представители простейших перифитона, играют существенную роль в жизни водоемов, обладая широкой экологической валентностью, большой скоростью размножения и являясь активными бактериофагами. Они имеют яйцевидную или сферическую форму клетки 3-10 мкм в диаметре, с апикальной стороны один жгутик, окруженный воротничком. Наблюдая в световой микроскоп, можно заметить определенные токи жидкости, которые возникают вследствие биения жгутика. Движение жидкости направлено таким образом, что увлекаемые ими бактерии и детрит прилипают к наружной поверхности тентакул (цитоплазматических выростов, окружающих жгутик), создавая иллюзию плотного воротничка. Хоанофлагелляты составляют существенную долю гетеротрофных нанофлагеллят (5-40%), они играют особую роль в процессах самоочищения водоемов, отфильтровывая до 25% поверхностных вод ежедневно (King, 2005). Мы учитывали пищевые стратегии простейших для выделения особых функцио-

нальных групп (экоморфотипов), или экобиоморф. Колониальные хоанофлагелляты (*Codonosiga botrytis*) являются «пионерными видами» перифитона, т.е. заселяют искусственные субстраты на ранних стадиях колонизации, доминируют в мезосапробных зонах.

Как уже отмечено выше, хоанофлагелляты отличаются высокой скоростью размножения, поэтому необходимо использовать сукцессионный подход, отбор проб микроперифитона следует производить два-три раза в неделю. Такая методика позволила нам создать графическую модель развития хоанофлагеллят в различных сапробных зонах (Рис.) и получить патент на «Способ биологической оценки качества воды» (Золотарев, 1986). Таким образом, вид *Codonosiga botrytis* может быть представлен как модельный организм, поскольку он обычно доминирует в начальной стадии обрастания, называемой также первичной сукцессией перифитона. В биоиндикации существенное значение имеет проблема «физиономичности индикаторов», их характерного «облика», легко доступного для обнаружения и наблюдений, хоанофлагелляты отвечают и этому требованию. Количество неприкрепленных нанофлагеллят также может служить показателем сапробности.

Это еще раз говорит о важности учета морфофункциональных особенностей организмов при использовании индексов разнообразия, более стабильны эти показатели для группы неприкрепленных флагеллят. Показатели числа видов и видового разнообразия простейших перифитона принимают минимальные значения как в олиго-, так и в полисапробных зонах, что характерно и для других групп гидробионтов. На основе многолетних исследований нами предложен новый показатель органического загрязнения - индекс перифитонных флагеллят:

$$IPF = Ss/Sm \quad (1)$$

где Ss – число видов сессильных (прикрепленных) нанофлагеллят, Sm - число видов мобильных (неприкрепленных) форм. Индекс принимает наивысшие значения в олиготрофных водах (1,0 - 3,0); равномерно снижается с увеличением загрязнения в мезотрофных водах (0,3 - 1,0); в полисапробных зонах убывает до 0.

3.4. Мультивидовое биотестирование и разработка индекса сублетальной токсичности

Ряд современных исследователей (Cairns, 2002; 2005) считают неестественным такое положение дел, когда много времени тратится на разработку различных «стандартных» токсикологических методов, а главный вопрос - в какой мере лабораторные тесты на видовом уровне соответствуют процессам, происходящим в экосистемах, остается неразрешенным. Возникают возражения, что при огромном разнообразии водных экосистем невозможно определить эффект небольших антропогенных воздействий.

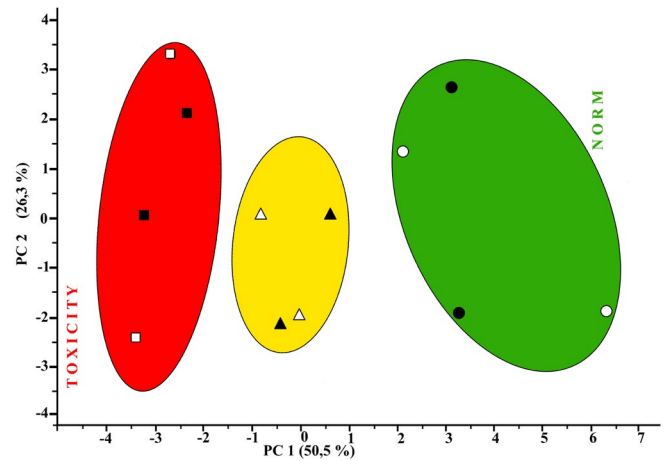


Рис. Модель изменения протозойных сообществ в градиенте сублетальной токсичности (первая и вторая главные компоненты).

Работы последних лет показали, что токсикологические тесты на уровне сообществ - возможная альтернатива. В качестве критерия токсичности Кейрнс с соавторами используют не показатели смертности, а динамические функции - процессы колонизации и сукцессии. Применение таких методов позволяет одновременно тестировать множество видов, обычных для района исследований. Если бы экосистемы функционировали как простая сумма составляющих видов, результаты воздействия токсикантов можно было бы предсказать по реакции наиболее чувствительных видов. Но благодаря иерархической организации реальных экосистем, их сложность находится в экспоненциальной зависимости от числа составляющих элементов. Недостаток «экологического реализма» простых биотестов обусловлен несколькими причинами: (1) в естественных условиях виды не живут в изоляции; (2) предпочитаемые тест - объекты не могут быть распространены во всех экосистемах; (3) токсические вещества обычно претерпевают изменения в реальной экосистеме; (4) токсические вещества чаще встречаются в комплексе. Для установления реальной опасности токсических веществ необходим исходный экспериментальный материал, относящийся к процессам, происходящим в экосистемах на надорганизменном уровне, т.е. на уровне взаимодействия сосуществующих популяций.

В токсикологических экспериментах мы также использовали МСП и методы многомерной статистики для создания модели развития микробных сообществ в градиенте токсичности и органических веществ, разработали новый упрощенный показатель - индекс сублетальной токсичности:

$$IST = Ns/Na \quad (2)$$

где Ns - численность Sessilida (прикрепленных инфузорий), Na - численность Amoebozoa (лобозных амеб), индекс принимает минимальные значения в более токсичных водах (1,0 - 0). На основе проведенных экспериментов в микрокосмах нами также получен патент на «Способ оценки токсичности воды» (Золотарев, 1991). Индексы разнообразия отдельных функциональных групп простейших

также являются хорошими количественными показателями для биомониторинга. Наиболее точен интегральный статистический показатель, вычисляемый методом главных компонент (Рис., по Золотарев, 1988; 2007).

4. Выводы

«Здоровье экосистем» – устоявшийся уже термин в научной литературе (Costanza, 2012, Kruse, 2019, и др.), и современные методы биомониторинга должны соответствовать международной практике. Более того, через системы искусственного интеллекта (ИИ) они должны соответствовать и современным понятиям индивидуального здоровья человека и «здоровое общество». Микро-методы биомониторинга и биотестирования наиболее рентабельны для ранней диагностики антропогенных воздействий на водоемы.

Таким образом, методы с применением сообществ микроперифитона обладают целым рядом свойств, ценных для биомониторинга, выгодно отличаясь от многоклеточных аналогов отсутствием региональных барьеров, быстрой реакцией на подострые воздействия стрессовых факторов, позволяют различать трофность водоемов и влияние токсичных веществ, а также наночастиц. Нами разработан проект создания нового поколения биосенсоров (эко-сенсоров и экороботов) и автоматизированной информационной сети биомониторинга водоемов на основе МСП (<http://biomonitoring.narod.ru>).

В дальнейшей разработке систем он-лайн мониторинга водной среды, несомненно, будет продолжаться тенденция к миниатюризации, использованию передовых методов сбора данных и коммуникационных технологий, интегральных стандартов, наподобие «Доу Джонс» для качества воды (van der Schalie et al., 2001). Можно сделать вывод, что используемые современные цифровые технологии в ближайшем будущем могут найти самое широкое применение в различных направлениях экологических исследований и биомониторинге.

Благодарности

Выражаем искреннюю благодарность д.б.н. А.П. Мыльникову, Институт биологии внутренних

вод им. И.Д. Папанина Российской академии наук, и проф. А.И. Раилкину, Санкт-Петербургский государственный университет.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Список литературы

- Золотарев В.А. 1986. Способ биологической оценки качества воды. Патент 1237137 РФ.
- Золотарев В.А. 1988. Бесцветные жгутиконосцы перифитона внутренних водоемов. Автореф. дис. канд. биол. наук. Москва: МГУ
- Золотарев В.А. 1991. Способ оценки токсичности воды. Патент 1489371 РФ.
- Камшилов М.М. 1979. Эволюция биосферы. Москва: Наука.
- Artificial Substrates. 1982. In: Cairns J. (Ed.). Michigan: Ann Arbor Science Publishers.
- Cairns J. 2002. Ecotoxicology and sustainable use of the planet. *Toxicology and Industrial Health* 4: 161–170.
- Cairns J. 2005. Biomonitoring: the crucial link between natural systems and society. *Mankind Quarterly* 3: 289–308.
- Costanza R. 2012. Ecosystem health and ecological engineering. *Ecological Engineering* 45: 24–29.
- Finlay B. 2002. Global dispersal of free-living microbial eukaryote species. *Science* 296: 1061–1063.
- Jiang J., Wu S., Shen Y. 2007. Effects of seasonal succession and water pollution on the protozoan community structure in an eutrophic lake. *Chemosphere* 66(3): 523–532.
- King N. 2005. Choanoflagellates. *Current Biology* 15(4): 113–114.
- Kruse M. 2019. Ecosystem health indicators? In B. Fath (Ed.). *Encyclopedia of Ecology*. Elsevier: 407–414.
- Mandelbrot B.B. 1982. *The Fractal geometry of nature*. San Francisco: Freeman W.H.
- Sick Water? The central role of wastewater management in sustainable development. A rapid response assessment. 2010. In: Corcoran E., Nellemann C., Baker E. et al. (Eds). UN-HABITAT, GRID. URL: www.grida.no
- Van der Schalie W.H., Shedd T.R., Knechtges P.L. et al. 2001. Using higher organisms in biological early warning systems for real-time toxicity detection. *Biosensors Bioelectronics* 16: 457–465.
- Zolotarev V.A. 2007. Water quality monitoring in wetland ecosystems using microbial model communities. *International Journal of Water* 3(3): 231–242.